Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. F. Heim

Stoffwechselveränderungen des Gehirns im Verlauf der nicht letalen Kaliumcyanidvergiftung und ihre Beeinflussung durch Cyanidantagonisten

vorgelegt
der Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur Erlangung der
venia legendi
für das Fach
Pharmakologie und Toxikologie

von

Dr. med. CLAUS-JÜRGEN ESTLER

1963

1963 № 178

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak. 251, 413—432 (1965)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. F. Heim)

Stoffwechselveränderungen des Gehirns im Verlauf der nicht letalen Kaliumcyanidvergiftung und ihre Beeinflussung durch Cyanidantagonisten

Von
C.-J. Estler

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. März 1965)

In der umfangreichen Literatur über die biologischen Wirkungen der Cyanvergiftung finden sich nur wenige Arbeiten über den Einfluß von Cyanverbindungen auf den Kohlenhydrat- und Energiestoffwechsel speziell des Gehirns [Albaum, Tepperman u. Bodansky (1); Olsen u. Klein; Stone]. Insbesondere ist die Frage noch offen, welche Beziehungen bestehen zwischen der Aktivität der durch Cyanid blockierten Cytochromoxydase, den Stoffwechselveränderungen im Gehirn und der Intensität und Dauer des äußeren Vergiftungsbildes. Wir haben deshalb während einer Kaliumcyanidvergiftung neben der Cytochromoxydaseaktivität den Gehalt des Gehirns an Glykogen, Glucose, Glucose-6-phosphat, Fructosediphosphat, Dioxyacetonphosphat, Pyruvat, Lactat, Kreatinphosphat, Adenosintriphosphat, Adenosindiphosphat, Adenosinmonophosphat, anorganischem Orthophosphat und Nicotinamid-adenindinucleotid[1] bestimmt und zu den äußeren Vergiftungserscheinungen in Beziehung gesetzt.

Vor allem aber sollte untersucht werden, in welcher Weise Cyanidantagonisten (Glucose, NAD, Hämiglobin, Natriumnitrit, Natriumthiosulfat, oxydiertes Glutathion) das Symptomenbild und die Cytochromoxydaseaktivität des Gehirns beeinflussen und in den durch Kaliumcyanid veränderten Hirnstoffwechsel eingreifen.

[1] Folgende Abkürzungen werden in dieser Arbeit verwendet: ADP: Adenosindiphosphat, AMP: Adenosinmonophosphat, ATP: Adenosintriphosphat, Cyt. Ox.: Cytochromoxydase, DAP: Dihydroxyacetonphosphat, FDP: Fructose-1,6-diphosphat, G-6-P: Glucose-6-phosphat, GSH: Glutathion (reduzierte Form), GS-SG: Glutathion (oxydierte Form), KrP: Kreatinphosphat, NAD: Nicotinamid-adenindinucleotid (oxydierte Form), $NADH_2$: Nicotinamid-adenindinucleotid (reduzierte Form), P: anorganisches Orthophosphat.

Die Infusion von Glucose zur Behandlung von Cyanvergiftungen wird immer wieder empfohlen [Möller; Paulet (2); Töppich], obwohl Tierversuche meistens keine oder nur eine geringe Schutzwirkung erkennen ließen (Forst; Heymans u. Soenen; Schankies; Turner u. Hulpieu; Violle; Voegtlin, Johnson u. Dyer). Der Mechanismus der protektiven Wirkung der Glucose wird auf die Möglichkeit einer Bildung von wenig toxischem Cyanhydrin zurückgeführt. Da unsere Versuche ergeben hatten, daß die Cyanidvergiftung zu einer erheblichen Verminderung des Glucose- und Glykogengehalts des Gehirns führt, stellte sich die Frage, ob die Schutzwirkung nicht vielmehr auf einem vermehrten Substratangebot beruht.

An einen günstigen Einfluß von NAD auf die Kaliumcyanidvergiftung war zu denken, weil der Nicotinamid-adenindinucleotidgehalt des Gehirns bei der Cyanidvergiftung vermindert gefunden wurde, und nach Colowick, Kaplan u. Ciotti sowie Meyerhof u. Kaplan Cyan-Ionen mit NAD unter Bildung eines Additionsproduktes reagieren können. Es erschien deshalb nicht ausgeschlossen, daß Cyan-Ionen im Blut durch dort in größerer Menge vorhandenes NAD abgefangen und entgiftet werden könnten, oder daß durch Substitution des verlorenen NAD die Auswirkungen der KCN-Vergiftung auf Stoffwechsel und Funktion des Zentralnervensystems gemildert werden könnten.

Die Wirkung des als Antagonist verwendeten Natriumnitrit wurde mit der Wirkung von reinem Hämiglobin verglichen. Wenn, wie angenommen wird, die cyanidantagonistische Wirkung von Nitriten nur auf deren Fähigkeit zur Hämiglobinbildung beruht, sollte die gleiche Wirkung auch mit reinem Hämiglobin zu erzielen sein. Bei den bisher vorliegenden vergleichenden Untersuchungen von Hanzlik u. Richardson; Hug (1); Weber, Friedberg u. Lendle; Wendel (1—2) und Wirth handelte es sich lediglich um Toxicitätsbestimmungen.

Natriumthiosulfat wählten wir als Prototyp der schwefelhaltigen Cyanidantagonisten, die mit Cyan-Ionen in einer durch das Ferment Rhodanese katalysierten Reaktion relativ ungiftiges Thiocyanat bilden. Ferner untersuchten wir die Wirkung von oxydiertem Glutathion, das nach Voegtlin, Johnson u. Dyer eine schwache cyanidantagonistische Wirkung besitzt, und dessen Gehalt im Blut durch Cyanid herabgesetzt wird [Paulet (1); Renescu u. Potop].

Methodik

Als Versuchstiere dienten ausgewachsene weiße Mäuse des Inzuchtstammes BLH, die mit Standardkost (Altromin) ernährt worden waren. Sie erhielten 1,75 mg/kg KCN innerhalb 10 sec i.v. oder 6 mg/kg KCN s.c.

Der Einfluß der Antagonisten wurde an der i.v. KCN-Vergiftung geprüft. Wegen des raschen Ablaufs der Vergiftung mußten die Antagonisten vor dem KCN

gegeben werden. NAD wurde in einer Dosis von 360 mg/kg i.p. 2 min vor der KCN-Injektion verabreicht, Glucose (2 g/kg) in 20%iger Lösung i.v. 1 min vor der KCN-Injektion. Natriumnitrit wurde in einer Dosis von 60 mg/kg i.p. 30 min vor dem KCN injiziert, da nach Hug (2), Hug u. Marenzi und Svedberg der höchste Hämiglobingehalt des Blutes 15—60 min nach der Injektion zu erwarten ist. Hämiglobin, das aus Schweineerythrocyten selbst hergestellt worden war, kam in einer Dosis von 1,1 g/kg i.v. 1 min vor der KCN-Injektion zur Anwendung. Natriumthiosulfat (2,5 g/kg) gaben wir i.p. 5 min vor der KCN-Injektion, Glutathion in oxydierter Form (200 mg/kg) i.v. 1 min vor dem KCN.

In weiteren Versuchen erhielten Mäuse nur die Cyanidantagonisten in gleicher Dosierung.

Zu konstanten Zeiten nach der KCN-Gabe wurden die Mäuse durch Eintauchen in flüssige Luft[1] getötet, die Gehirne in gefrorenem Zustand entnommen und zur Analyse aufgearbeitet. Blut wurde durch Dekapitieren und Ausbluten gewonnen.

Die Analysen wurden nach folgenden Methoden durchgeführt: ATP in Anlehnung an Bücher u. Schuart[2], ADP und AMP im kombinierten Test in Anlehnung an Lipmann u. Bücher (1)[2], Kreatinphosphat und anorganisches Orthophosphat nach Thorn, Pfleiderer, Frowein u. Ross, NAD und $NADH_2$ nach Jedeikin u. Weinhouse, Lactat in Anlehnung an Scholz, Schmitz, Bücher u. Lampen[2], Pyruvat in Anlehnung an Bücher (2)[2], Dihydroxyacetonphosphat und Fructosediphosphat im kombinierten Test nach Bücher u. Hohorst, Glucose-6-phosphat nach Lamprecht u. Stein. Zur Bestimmung der Cytochromoxydase nach Smith u. Stotz wurde Hirngewebe in physiologischer Kochsalzlösung homogenisiert. Die Aktivität wurde in μl O_2-Verbrauch/mg Frischgewebe/Std angegeben. Der Glucosegehalt des Blutes wurde enzymatisch nach Huggett u. Nixon bestimmt. Zur Bestimmung der Glucose im Gehirn diente der gleiche Fermenttest. Dazu wurden 300—400 mg Hirngewebe zweimal mit 5 ml 80%igem Methanol nach Kemp u. Kits van Heijningen extrahiert. Zur Bestimmung des Glykogens wurden 300—400 mg Hirngewebe nach Entfernen der Glucose mit Methanol mit 2,5 ml 5%iger Trichloressigsäure 30 min im kochenden Wasserbad in Anlehnung an die Methode von Kemp u. Kits van Heijningen extrahiert. Der Extrakt wurde mit Salzsäure auf eine HCl-Endkonzentration von 1 n gebracht und 1 Std im kochenden Wasserbad hydrolysiert. Anschließend wurde mit Natronlauge neutralisiert, filtriert und das Filtrat in den Fermenttest zur Glucosebestimmung nach Huggett u. Nixon eingesetzt. Die Glykogengehalte sind in Glucoseäquivalenten angegeben. Hämoglobin und Hämiglobin wurden nach Magos u. Szirtes spektrophotometrisch bestimmt.

Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe der Versuchstiere wurden mit dem Diaferometer nach Noyons[3] bestimmt. Als Kontrolltiere dienten Mäuse, die physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten. Da der Gasaustausch der Kontrolltiere infolge langsamen Abklingens der durch die Injektion verursachten Erregung kontinuierlich abnimmt, wurden die Meßergebnisse der mit KCN behandelten Tiere auf die zur gleichen Zeit nach der Injektion bei den Kontrolltieren gemessenen Werte bezogen.

---

[1] Die für die Versuche benötigte flüssige Luft wurde uns von der Gesellschaft für Lindes Eismaschinen, Nürnberg, in dankenswerter Weise kostenlos zur Verfügung gestellt.

[2] Unter Verwendung von Biochemica-Test-Combinationen der Firma C. F. Boehringer & Soehne, Mannheim.

[3] Hersteller: Kipp & Zonen, Delft, Holland.

Die Zahl der Einzelbestimmungen, aus denen die in den Tabellen und Abbildungen angegebenen Mittelwerte errechnet sind, lag zwischen 4 und 21. Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des *t*-Tests statistisch überprüft. Unterschiede wurden als signifikant angesehen, wenn $P \leqq 0{,}05$ war.

Versuchsergebnisse

Die KCN-Dosen waren so bemessen, daß eine schwere, subletale Vergiftung eintrat. Nach i.v. Injektion von 1,75 mg/kg setzten die Intoxikationserscheinungen — zunächst Unruhe und Dyspnoe, dann Krämpfe mit Abgang von Kot und Urin, Schnappatmung oder kurzfristiger Atemstillstand — akut ca. 30 sec nach Beginn der Injektion ein. Der Höhepunkt der Vergiftung lag zwischen der 1. und 2. min nach Beginn der Injektion. Danach begann die Erholung, die so rasch verlief, daß die meisten Tiere 5 min nach Beginn der Injektion ein normales Verhalten zeigten. Spätestens 10 min nach Beginn der Vergiftung verhielten sich alle Tiere unauffällig. Die biochemischen Veränderungen sind in Abb. 2 dargestellt, die Änderungen des Gaswechsels in Abb. 1.

6 mg/kg KCN subcutan führten zu einer mehr protrahiert verlaufenden Vergiftung, bei der die Tiere dyspnoisch wurden, nahezu bewegungslos liegen blieben, aber auf Anstoßen noch reagierten. Krämpfe, Schnappatmung und Seitenlage traten nicht auf. Nach dem äußeren Verhalten hatte die Vergiftung nach 10 min ihren Höhepunkt. Nach 30 min erschienen alle Tiere äußerlich völlig erholt. Die Veränderungen im Metabolitgehalt des Gehirns sind in der Tab. 2, die Änderungen im Gasaustausch in Tab. 1 angeführt. Die Veränderungen im Gehalt des Gehirns an energiereichen Phosphaten und Coenzym A wurden in einer früheren Mitteilung beschrieben (Estler u. Heim).

Wenn 2 min vor der i.v. Injektion von 1,75 mg/kg KCN 360 mg/kg NAD gegeben wurden, ließ ungefähr die Hälfte der Tiere Krämpfe und andere Symptome der subletalen i.v. KCN-Vergiftung erkennen. Das Verhalten der übrigen Tiere wich nicht von dem der Kontrolltiere ab. Die Veränderungen im Metabolitgehalt des Gehirns und im Gaswechsel sind in den Abb. 1 und 2 dargestellt.

2 g/kg Glucose 2 min vor der i.v. Verabreichung von 1,75 mg/kg KCN gegeben, konnten die Versuchstiere nicht vor den äußerlich sichtbaren Erscheinungen der KCN-Vergiftung schützen. Auch die doppelte Dosis war wirkungslos. Die Veränderungen des Metabolitgehalts im Gehirn finden sich in den Abb. 1 und 2.

60 mg/kg Natriumnitrit und 1,1 g/kg Hämiglobin wurden von den Versuchstieren ohne Zeichen einer Intoxikation vertragen, führten jedoch zu Änderungen des Stoffwechsels, die in den Tab. 3 und 4 aufgeführt sind. Der Hämiglobingehalt des Blutes betrug 30 min nach Verabreichung von 60 mg/kg Natriumnitrit 0,9—2,6 g-% bei entsprechender

Tabelle 1. *Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe weißer Mäuse nach subcutaner Injektion von 6 mg/kg KCN*

Zeit in Minuten	15	30	45	60	90	120
O_2-Verbrauch (in % der Kontrollen)	62[1]	76[1]	106	112	114	110
CO_2-Abgabe (in % der Kontrollen)	69[1]	76[1]	101	99	107	115

[1] Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leq 0{,}05$.

Tabelle 2. *Blutzuckerspiegel, Cytochromoxydaseaktivität und Metabolitgehalt des Gehirns weißer Mäuse nach Gabe von 6 mg/kg KCN subcutan*

Zeit in Minuten	0	10	30	120
Cytochromoxydase in µl O_2/Std/mg	21,5 ±0,4 (6)	3,0 ±0,2[1] (6)	12,1 ±0,7[1] (6)	19,3 ±1,1 (6)
Glykogen in µMol/g	3,25 ±0,12 (13)	2,08 ±0,13[1] (10)	2,47 ±0,17[1] (14)	2,94 ±0,09[1] (8)
Glucose in µMol/g	1,71 ±0,12 (13)	1,57 ±0,14 (10)	3,01 ±0,28[1] (14)	2,10 ±0,14[1] (8)
Fructosediphosphat in µMol/g	0,069±0,003 (13)	0,061±0,003[1] (6)	0,069±0,003 (8)	0,072±0,002 (8)
Dioxyacetonphosphat in µMol/g	0,031±0,002 (13)	0,031±0,001 (6)	0,033±0,001 (8)	0,031±0,002 (8)
Pyruvat in µMol/g	0,200±0,004 (10)	0,341±0,006[1] (10)	0,248±0,004[1] (10)	0,207±0,002 (10)
Lactat in µMol/g	1,83 ±0,16 (14)	4,54 ±0,26[1] (11)	3,42 ±0,48[1] (12)	1,93 ±0,19 (11)
NAD in µMol/g	0,384±0,005 (10)	0,343±0,005[1] (10)	0,347±0,004[1] (10)	0,373±0,009 (10)
$NADH_2$ in µMol/g	0,068±0,006 (7)	0,091±0,003[1] (9)	0,081±0,005 (9)	0,069±0,004 (9)
Blutzucker in mg-%	140±9 (12)	204±5[1] (15)	183±16[1] (15)	115±9 (12)

Angegeben sind die Mittelwerte und deren Streuungen, in Klammern die Zahl der Versuchstiere in jeder Gruppe.

[1] Wert vom Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leq 0{,}05$.

Verminderung des Hämoglobingehalts. 1,1 g/kg Hämiglobin i.v. führten nach 2 min zu einem mittleren Hämiglobingehalt von 0,94 g-%.

Mit Natriumnitrit und Hämiglobin ließ sich bei allen Tieren eine nach außen hin vollständige Schutzwirkung gegenüber der nachfolgenden

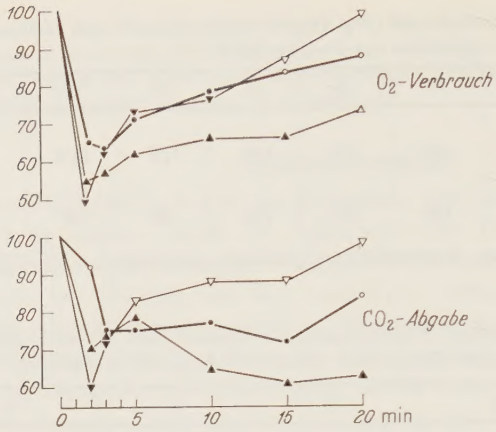

Abb. 1

Abb. 1. Der Einfluß von 1,75 mg/kg KCN i.v. allein (○———○) und nach Vorbehandlung mit 2 g/kg Glucose i.v. 1 min vor KCN (▽———▽) und 360 mg/kg NAD i.p. 2 min vor KCN (△———△) auf Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe (in Prozent der Kontrollen) weißer Mäuse. ● ▼ ▲: Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leqq 0{,}05$

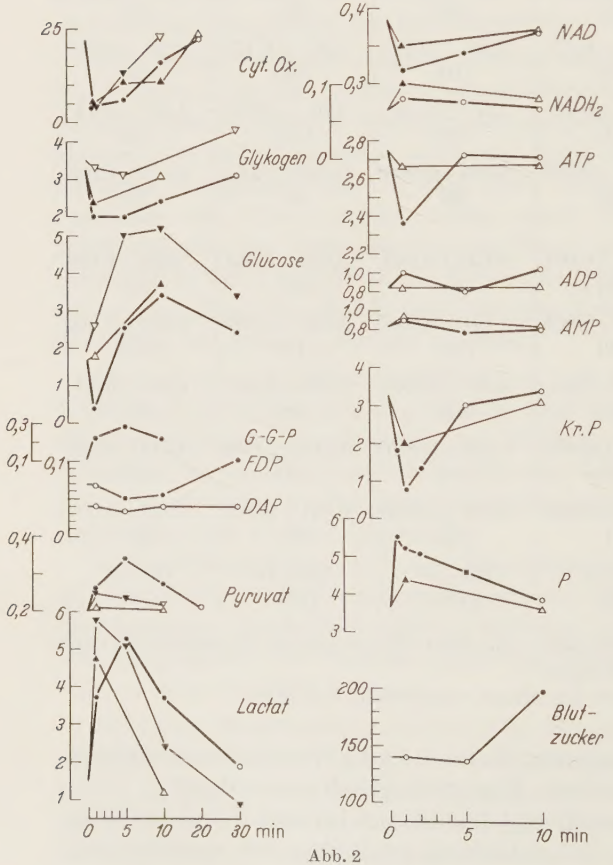

Abb. 2

Abb. 2. Der Einfluß von 1,75 mg/kg KCN i.v. allein (○———○) und nach Vorbehandlung mit 2 g/kg Glucose i.v. 1 min vor KCN (▽———▽) und 360 mg/kg NAD i.p. 2 min vor KCN (△———△) auf Blutzucker (in mg/100 ml), Cytochromoxydaseaktivität (in μl O_2/h/mg Frischgewicht) und Metabolitgehalt (in μMol/g Frischgewicht) des Gehirns weißer Mäuse. ● ▼ ▲: Wert vom Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leqq 0{,}05$

Tabelle 3. *Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe weißer Mäuse nach Verabreichung von Hämiglobin und Natriumnitrit*

Hämiglobin (1,1 g/kg i.v.)

Zeit in Minuten	2	3	5	10	15	20
O_2-Verbrauch (in % der Kontrollen)	77[1]	72[1]	75[1]	90	92	86
CO_2-Abgabe (in % der Kontrollen)	73[1]	69[1]	68[1]	85	90	94

Natriumnitrit (60 mg/kg i.p.)

Zeit in Minuten	10	20	30	40	50	60
O_2-Verbrauch (in % der Kontrollen)	87	77[1]	84	78	80	88
CO_2-Abgabe (in % der Kontrollen)	85	77[1]	83	75	79	82

[1] Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leqq 0{,}05$.

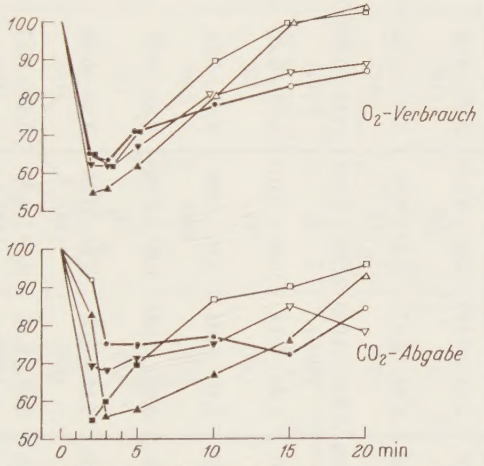

Abb. 3. Der Einfluß von 1,75 mg/kg KCN i.v. allein (○———○) und nach Vorbehandlung mit 1,1 g/kg Hämiglobin 1 min vor KCN i.v. (△———▽), 60 mg/kg Natriumnitrit i.p. 30 min vor KCN (▲———△) oder 2,5 g/kg Natriumthiosulfat i.p. 5 min vor KCN (□———□) auf Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe (in Prozent der Kontrollen) weißer Mäuse. ● ▼ ▲ ■: Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leqq 0{,}05$

KCN-Injektion erzielen. Die Störungen des Gaswechsels und des Metabolitgehalts des Gehirns ließen sich nicht völlig aufheben (Abb. 3 und 4).

Natriumthiosulfat (2,5 g/kg i.p.) und Glutathion (200 mg/kg i.v.) wurden ebenfalls ohne äußere Intoxikationserscheinungen vertragen. Der Metabolitgehalt des Gehirns ist in Tab. 4 angeführt. Mit Natriumthiosulfat ließen sich die Symptome der Cyanidvergiftung nicht bei allen

Tabelle 4. *Blutzuckerspiegel und Metabolitgehalt des Gehirns weißer Mäuse nach Verabreichung von Hämiglobin, Natriumnitrit, Natriumthiosulfat und oxydiertem Glutathion*

	Kontrollen	Hämiglobin 1,1 g/kg i.v.		Natriumnitrit 60 mg/kg i.p.		Natriumthiosulfat 2,5 g/kg i.p.		Glutathion (oxyd.) 200 mg/kg i.v.
Zeit in Minuten		2	11	30	40	6	15	11
Glykogen in μMol/g	3,24±0,10 (16)	2,51±0,13[1] (11)	2,61±0,16[1] (13)	3,03±0,08 (10)	2,66±0,14[1] (10)	3,21±0,08 (10)	3,38±0,12 (10)	3,13±0,18 (7)
Glucose in μMol/g	1,68±0,09 (17)	1,48±0,07 (13)	1,79±0,07 (13	1,97±0,12 (10)	2,30±0,10[1] (10)	2,49±0,07[1] (10)	2,15±0,13[1] (10)	2,61±0,16[1] (8)
Pyruvat in μMol/g	0,200±0,004 (10)	0,206±0,003 (10)	0,194±0,004 (9)	0,213±0,005 (11)	0,191±0,006 (12)	0,208±0,003 (10)	0,207±0,003 (10)	—
Lactat in μMol/g	1,72±0,07 (21)	1,86±0,14 (16)	1,44±0,10[1] (12)	1,75±0,10 (10)	1,95±0,12 (18)	1,75±0,19 (13)	1,34±0,10[1] (18)	—
ATP in μMol/g	2,08±0,07 (18)	2,19±0,04 (18)	2,16±0,04 (18)	2,01±0,04 (16)	2,21±0,09 (15)	2,35±0,04 (18)	2,29±0,04 (18)	—
ADP in μMol/g	0,82±0,05 (7)	0,94±0,03[1] (6)	0,81±0,06 (6)	0,86±0,01 (5)	0,85±0,02 (4)	0,82±0,04 (6)	0,75±0,07 (6)	—
Kreatinphosphat in μMol/g	3,34±0,07 (22)	3,42±0,08 (18)	3,24±0,05 (18)	3,15±0,09 (15)	3,08±0,06[1] (16)	3,56±0,05 (15)	3,74±0,06[1] (17)	—
Anorg. Phosphat in μMol/g	3,55±0,21 (14)	3,93±0,11 (18)	3,56±0,07 (18)	3,44±0,17 (12)	3,90±0,24 (8)	3,56±0,20 (13)	3,59±0,22 (16)	—
Blutzucker in mg-%	140±9 (12)	128±7 (13)	94±11[1] (10)	146±9 (13)	124±5 (15)	171±7[1] (14)	142±11 (13)	—

Angegeben sind die Mittelwerte und ihre Streuungen, in Klammern die Zahl der Einzelversuche.
[1] Wert vom Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leqq 0{,}05$.

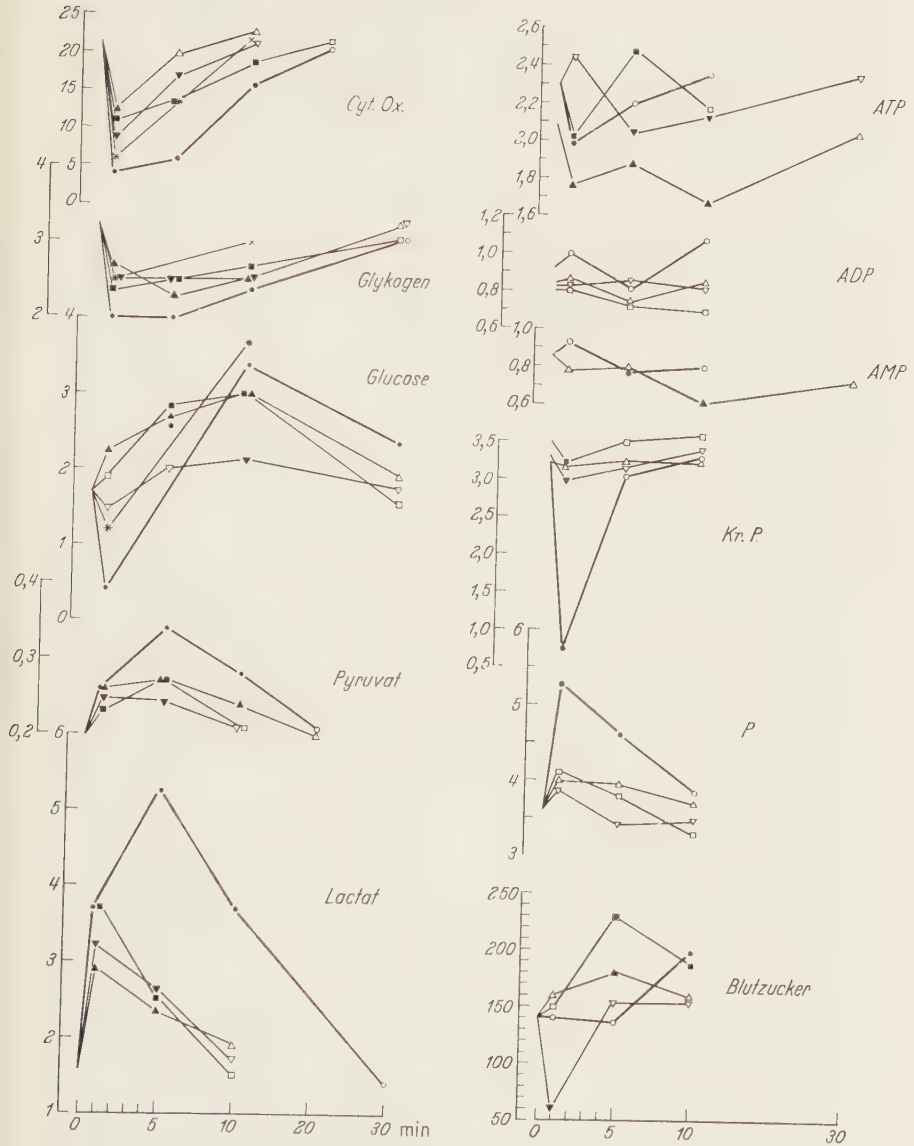

Abb. 4. Der Einfluß von 1,75 mg/kg KCN i.v. allein (○———○) und nach Vorbehandlung mit 1,1 g/kg Hämiglobin i.v. 1 min vor KCN (▽ ——▽), 60 mg/kg Natriumnitrit i.p. 30 min vor KCN (△———△), 2,5 g/kg Natriumthiosulfat i.p. 5 min vor KCN (□———□) oder 200 mg/kg oxyd. Glutathion i.v. 1 min vor KCN (×———×) auf Cytochromoxydaseaktivität in $\mu l O_2/h/mg$ Frischgewicht, Metabolitgehalt des Gehirns (in μMol/g Frischgewicht) und Blutzuckerspiegel (in mg/100 ml) weißer Mäuse. ● ▲ ▼ ■ *: Wert vom Kontrollwert signifikant verschieden, $P \leqq 0{,}05$

Tieren vollständig verhindern. Bei ca. 30% der Tiere kam es noch immer zum Auftreten von Krämpfen, die allerdings milder verliefen als bei unbehandelten Mäusen. Die mit Glutathion behandelten Tiere ließen äußerlich keine Schutzwirkung erkennen. Die Veränderungen des Hirnmetabolitgehalts, des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Abgabe sind in den Abb. 3 und 4 dargestellt.

Diskussion

Der Hirnstoffwechsel nach Verabreichung von Kaliumcyanid allein. Cyanid führt zu einer Hemmung der Sauerstoffaufnahme der Tiere und in etwas geringerem Maße zur Hemmung der CO_2-Abgabe. Die Ursache des verminderten Sauerstoffverbrauchs, wie auch der übrigen Vergiftungsfolgen, ist in der Blockierung der Cytochromoxydase zu suchen, die im Gehirn 83 bzw. 86% beträgt und damit stärker sein dürfte als in den anderen Organen, denn der Gesamtsauerstoffverbrauch der Tiere ist maximal nur um 38% verringert. Auffallend ist, daß trotz gleichstarker Inaktivierung der Cytochromoxydase bei der protrahierten subcutanen Vergiftung, im Gegensatz zur akuten i.v. Intoxikation, Bewußtlosigkeit und Krämpfe nicht auftreten. Offenbar spielt hierfür nicht nur das Ausmaß des Sauerstoffmangels, sondern auch noch ein Zeitfaktor eine Rolle, in dem Sinne, daß abrupter Sauerstoffentzug gravierend wirkt, denn die maximale Hemmung der Cytochromoxydase wird nach i.v. Injektion schon nach 30 sec, nach subcutaner Injektion erst nach 10 min erreicht. Substratmangel des Gehirns scheidet als auslösender Faktor aus, da auch nach Zufuhr von Glucose, die den Abfall des Glykogen- und Glucosegehalts des Gehirns verhindert, Krämpfe auftreten. Das Absinken des Glucose- und Glykogengehaltes ist wohl die Folge, nicht die Ursache der Krämpfe.

Das Unvermögen der Zelle, Sauerstoff zu verwerten, führt über den Pasteur-Effekt zur Intensivierung des glykolytischen Kohlenhydratabbaus, wie die Abnahme des Glykogen- und Glucose- und die Zunahme des Lactat- und Pyruvatgehaltes zeigen. Die Erhöhung des Lactat/Pyruvat-Quotienten spricht zusammen mit dem verminderten Coenzym A-Gehalt [Estler (1); Estler u. Heim] dafür, daß Pyruvat in geringerer Menge in den Citronensäurecyclus übergeführt und vermehrt zu Milchsäure hydriert wird.

Die auf dem Höhepunkt der Vergiftung beobachtete starke Abnahme des ATP- und Kreatinphosphatgehaltes, sowie die Zunahme des Gehaltes an AMP und anorganischem Orthophosphat dürfte mit der im Vergleich zum oxydativen Kohlenhydratabbau geringeren Energieausbeute der Glykolyse zusammenhängen, die den bei Krämpfen nach Opitz besonders hohen Energiebedarf nicht zu decken vermag. Wie bei Sauerstoffmangel verschiedentlich beobachtet wurde [Döring,

Knopp u. Martin; Estler (2); Lowry, Passoneau, Hasselberger u. Schulz; Thorn, Pfleiderer, Frowein u. Ross], wird auch hier der Phosphokreatingehalt stärker betroffen als der ATP-Gehalt. Da der ATP-Verlust nicht durch eine entsprechende Zunahme von ADP und AMP ausgeglichen wird, kommt es zu einer Verminderung des Gesamtgehaltes an Adeninmononucleotiden. Ähnliche Ergebnisse hatten Versuche von Coper, Herken u. Koransky; Döring, Knopp u. Martin und Lowry, Passoneau, Hasselberger u. Schulz bei Hypoxie, Ischämie und Krämpfen, so daß es sich hierbei um eine allgemeine Begleiterscheinung von Sauerstoffmangelzuständen handeln dürfte.

Die Ursache für den erniedrigten Gehalt an NAD + $NADH_2$ und Coenzym A könnte eine Störung der Synthese infolge Mangel an energiereichem Phosphat sein. Man muß jedoch auch an die Möglichkeit einer Ausschwemmung aus den Zellen denken, da nach Hess jeder Eingriff in die energieliefernden Reaktionen, wozu auch die Blausäurevergiftung zu rechnen ist, zur Schädigung der Zellmembran mit Austritt von löslichen Zellbestandteilen führt. Der Verlust an wichtigen Coenzymen dürfte umgekehrt nicht ohne Rückwirkungen auf den Zellstoffwechsel bleiben. Da NAD als Acceptor für den während der Glykolyse frei werdenden Wasserstoff dient, der dann unter Bildung von Lactat auf Pyruvat übertragen wird, ist eine Beeinträchtigung des anoxydativen Kohlenhydratabbaus bei NAD-Mangel durchaus denkbar. Unsere Versuche zeigen, daß nach Vorbehandlung mit NAD während der nachfolgenden KCN-Vergiftung der Gehalt an NAD + $NADH_2$ nicht absinkt. Man kann daraus schließen, daß NAD zumindest die bei Cyanidvergiftung und Sauerstoffmangel nach Quadbeck u. Helmchen; Quadbeck u. Schmitt sowie Stern u. Lokchina durchlässigere Blut-Hirnschranke passieren und verlorengegangenes NAD ersetzen kann. Der Lactat/Pyruvat-Quotient liegt sehr viel höher als bei den nicht mit NAD vorbehandelten Tieren. Dies deutet darauf hin, daß die enzymatische Umwandlung von Pyruvat in Lactat durch NAD-Mangel tatsächlich beeinträchtigt wird und durch Zufuhr von NAD gesteigert werden kann.

Nach Überschreiten des Höhepunktes der Vergiftung bilden sich alle Veränderungen im Metabolitgehalt wieder zurück, doch überdauern sie die äußeren Vergiftungserscheinungen, die nach 5 min abgeklungen sind, zum Teil beträchtlich. Die Reaktivierung der Cytochromoxydase erfolgt relativ langsam. Offenbar kann die Bindung des Cyan-Ions an die Cytochromoxydase nicht nur in vitro [Albaum, Tepperman u. Bodansky (2)], sondern auch in vivo nur langsam gespalten werden. Die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs des Gesamttieres geht mit dem Anstieg der Cytochromoxydaseaktivität im Gehirn weitgehend parallel. Das spricht dafür, daß die Cytochromoxydase im übrigen Organismus ungefähr gleichzeitig reaktiviert wird. Das Weiteransteigen des Pyruvat- und Lactatgehalts bis zur 5. min der Vergiftung ohne entsprechende weitere Abnahme des Glucose- und Glykogengehalts deuten an, daß der oxydative Kohlenhydratabbau zwar immer noch gestört ist,

daß das Substrat der Glykolyse jetzt aber aus extracerebralen Quellen, z. B. dem Blutzucker, stammt. Dieser ist zwar erst nach weiteren 5 min signifikant erhöht; da jedoch auch andere Organe unter Cyanid einen gesteigerten Glucoseverbrauch haben (Ikeziri; Koga; Randle u. Smith), verhindert eine vermehrte Entnahme wahrscheinlich zunächst eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels. Die Glucose dürfte aus der Leber stammen, da nach Benard, Tissier, Bareillier, Dermer u. Pequignot unter Cyanid der Glykogengehalt der Leber vermindert ist. Bei der protrahierten Vergiftung ist der Blutzuckerspiegel schon auf dem Höhepunkt der Vergiftung erhöht. Das erklärt vielleicht, daß in diesem Fall eine Abnahme der Hirnglucose nicht zu beobachten war. Das Ansteigen des Glucosegehaltes über die Norm dürfte eine direkte Folge des hohen Glucoseangebotes vom Blut her sein (Estler u. Ammon).

Während der Restitutionsphase normalisiert sich im Gehirn zuerst der Gehalt an energiereichem Phosphat. Wenn die Cytochromoxydaseaktivität wieder mehr als 50% des Ausgangswertes beträgt, treten rückläufige Veränderungen vor allem auch im Lactat- und Pyruvatgehalt ein, die dafür sprechen, daß der anaerobe Kohlenhydratabbau wieder eingeschränkt werden kann. Erst bei weitgehend normaler Cytochromoxydaseaktivität nimmt der Glykogengehalt wahrscheinlich auf Kosten des wieder absinkenden Glucosegehaltes zu. Zusammen mit dem normalen ATP- und Phosphokreatingehalt kann dies als Zeichen einer ausreichenden oxydativen Energiegewinnung betrachtet werden.

Der Einfluß von Glucose und Nicotinamid-adenindinucleotid auf die durch Kaliumcyanid verursachten Stoffwechseländerungen im Gehirn. Nach Verabreichung von Glucose läßt sich äußerlich keine protektive Wirkung erkennen. Auch die Inaktivierung der Cytochromoxydase in der 1. min der Cyanidvergiftung wird nicht abgeschwächt. Eine Entgiftung des KCN zu diesem Zeitpunkt ist deshalb wenig wahrscheinlich. Dagegen spricht auch, daß die Störungen des Gasaustausches nicht vermindert werden. Die nach der Glucosevorbehandlung zu beobachtende schnellere Reaktivierung der Cytochromoxydase könnte auf einer nach einigen Minuten einsetzenden Cyanhydrinbildung beruhen, denn diese erfolgt, wie Heymans u. Soenen zeigen konnten, langsam. Damit erklärt sich auch das Fehlen einer äußerlich sichtbaren Schutzwirkung, denn die äußeren Symptome der Cyanidvergiftung haben bereits vor dem Wirksamwerden der Cyanhydrinbildung ihren Höhepunkt.

Im Gehirn steigt der Lactatgehalt in der 1. min der KCN-Vergiftung noch höher an, als bei den Tieren, die keine Glucose erhalten hatten. Der offenbar mit dem dem Gehirn zur Verfügung stehenden Substrat nicht im maximal möglichen Ausmaß erfolgende anoxydative Kohlenhydratabbau kann also noch gesteigert werden, wobei infolge des großen Substratangebotes vom Blute her die endogenen Reserven nicht angegriffen werden müssen.

Unsere Befunde sprechen dafür, daß die von einigen Autoren beobachteten günstigen Wirkungen der Glucose zumindest nur zum Teil auf deren entgiftender Funktion beruhen, die zudem erst nach einigen Minuten einzusetzen scheint. Zu einem beträchtlichen Teil dürfte die Schutzwirkung durch vermehrte Bereitstellung von glykolysierbarem Substrat bedingt sein. Auf diese Weise kann eine Vergiftung länger toleriert werden, ehe durch völlige Erschöpfung der Substratreserven das Gehirn funktionsunfähig wird.

Unsere Befunde machen weiterhin deutlich, daß Glucose allein zwar kein ausreichendes Antidot zur Behandlung einer Cyanvergiftung ist, daß aber die Infusion von hochprozentiger Glucoselösung in Kombination mit anderen Cyanidantagonisten durchaus eine sinnvolle Maßnahme zur Behandlung der Blausäurevergiftung darstellt.

Auf die günstigen Wirkungen von exogen zugeführtem NAD auf den Metabolitgehalt des Gehirns KCN-vergifteter Tiere wurde bereits hingewiesen. NAD hatte aber keinen hemmenden Einfluß auf die Inaktivierung der Cytochromoxydase und auf die daraus resultierende Steigerung der Glykolyse. Unsere Befunde geben somit keinen Hinweis darauf, daß NAD über die von Colowick, Kaplan u. Ciotti und Meyerhof u. Kaplan beschriebene Reaktion als echter Cyanidantagonist entgiftend wirkt.

Der Einfluß von Hämiglobin und Natriumnitrit auf die durch KCN verursachten Stoffwechseländerungen im Gehirn. Nach Verabreichung von 60 mg/kg Natriumnitrit zeigten sich bei unseren Versuchstieren keine Vergiftungserscheinungen. Dies beruht darauf, daß nach Hanzlik u. Richardson; Heubner und Meier Mäuse nur mit einer geringen Hämiglobinbildung reagieren, so daß ihr Hämiglobingehalt in unseren Versuchen nur ca. 20% des normalen Hämoglobingehaltes von 12,2 g-% betrug, während nach Bodansky eine Intoxikation erst bei einem Hämiglobingehalt von 40—60% zu erwarten ist. Bei den mit reinem Hämiglobin behandelten Mäusen lag der Hämiglobingehalt mit 0,94 g-% etwas niedriger. Es erschien uns aber nicht sinnvoll, die ohnehin ziemlich visköse Hämiglobinlösung weiter zu konzentrieren oder größere Mengen der Lösung zu injizieren, da dann eventuell eine zu große Blutverdünnung störend in Erscheinung getreten wäre.

Wenn auch Natriumnitrit und Hämiglobin im verwendeten Dosisbereich keine äußerlich sichtbaren Vergiftungserscheinungen hervorrufen, so weisen doch die Abnahme des Glykogen- und nach Natriumnitrit auch des Kreatinphosphatgehalts auf eine Störung der Energiegewinnung mit vermehrtem Substratverbrauch hin. Da sich ähnliche Veränderungen auch bei anderen Sauerstoffmangelzuständen finden [Döring u. Gerlach; Döring, Knopp u. Martin; Estler (2); Gerlach, Döring u. Fleckenstein; Gurdjian, Webster u. Stone; Lowry, Passoneau, Hasselberger u. Schulz; Olsen u. Klein; Thorn, Pfleiderer, Frowein u. Ross; Thorn, Isselhard u. Müldener; Thorn, Scholl, Pfleiderer u.

Müldener], könnte man bei den mit Nitrit behandelten Tieren an eine Störung des Sauerstofftransportes infolge des verminderten Hämoglobingehalts denken. Dies kann jedoch nicht für die mit Hämiglobin behandelten Tiere zutreffen, die mit 13 g-% einen normalen Hämoglobingehalt aufweisen. Nach Darling u. Roughton erschwert jedoch Hämiglobin die Abgabe des Sauerstoffs vom Hämoglobin infolge Verschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve, so daß nach Tepperman, Bodansky u. Jandorf bereits Hämiglobinkonzentrationen von weniger als 20% eine mangelhafte Sauerstoffversorgung der Gewebe verursachen können.

Die von uns verabreichten Natriumnitrit- und Hämiglobinmengen können zwar die äußeren Erscheinungen der Cyanidvergiftung völlig verhindern, heben aber die durch Cyanid hervorgerufene Senkung des Sauerstoffverbrauchs nicht auf, Nitrit verstärkt sie sogar. Cyanid und Hämiglobin wirken vielleicht durch Blokkierung der Cytochromoxydase und Erschwerung der Abdissoziation des Sauerstoffs vom Oxyhämoglobin in gewissem Sinne synergistisch. Nitrit könnte zudem wegen seiner vasodilatorischen Wirkung der durch Cyanid verursachten Kreislaufzentralisation [Paulet (2)] entgegenwirken. Dies würde dazu führen, daß zwar dem Zentralnervensystem weniger, größeren peripheren Arealen aber mehr Cyanid mit dem Blut zugeführt wird. Als Folge der Blockierung der Cytochromoxydase in diesen ausgedehnten Organbereichen wäre eine Senkung des Gesamt-O_2-Verbrauchs der Versuchstiere durchaus zu erwarten.

Unabhängig von der äußerlich 100%igen Schutzwirkung können im Gehirn weder Natriumnitrit noch Hämiglobin die Blockierung der Cytochromoxydase völlig verhindern. Die Inaktivierung um 40 bzw. 60% führt noch zu einer Verminderung der Glykogenreserven und einem Ansteigen des Lactat- und Pyruvatgehalts, die zwar geringer sind als bei Tieren ohne Vorbehandlung, aber doch für eine Steigerung der Glykolyse sprechen. Auch nach Nitrit- und Hämiglobinvorbehandlung reichen Atmung und Glykolyse nicht aus, den Energiebedarf zu decken, wie der Abfall des Phosphokreatingehalts zeigt. Der Verlust des Gehirns an energiereichem Phosphat bleibt jedoch wesentlich geringer, wahrscheinlich weil infolge des Fehlens der Krämpfe der Energiebedarf niedriger sein dürfte.

Auffallend ist, daß nach Vorbehandlung mit Natriumnitrit und Hämiglobin 10 min nach der KCN-Injektion, also zu einem Zeitpunkt, zu dem die Cytochromoxydaseaktivität nicht mehr signifikant vermindert ist, der ATP-Gehalt des Gehirns herabgesetzt ist. Vielleicht ist dieser Befund auf die Hämiglobinämie zurückzuführen.

Als praktische Konsequenz ergibt sich, daß man bei der Behandlung Cyanvergifteter mit hämiglobinbildenden Stoffen nicht nur an die cardiovaskulären Wirkungen dieser Verbindungen denken sollte, sondern auch daran, daß durch die Hämiglobinbildung die Sauerstofftransportkapazität vermindert und darüber hinaus durch Verschiebung der Dissoziationskurve des Oxyhämoglobins die Sauerstoffverwertung in den Geweben merklich herabgesetzt wird, was bei der Therapie von Cyanvergiftungen nicht gleichgültig sein kann.

Die Wirkung von Natriumthiosulfat und Glutathion. 2,5 g/kg Natriumthiosulfat wurden ohne Vergiftungssymptome vertragen. Auch Forst und Wirth sahen nach Verabreichung von 3 g/kg Natriumthiosulfat keine Zeichen einer Intoxikation. Die Analyse der Gehirne ergab eine Zunahme des Glucosegehalts, die wahrscheinlich mit dem vorübergehenden Anstieg des Blutzuckerspiegels in Zusammenhang

steht. Die Zunahme des Kreatinphosphat- und die Abnahme des Lactatgehalts ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß Thiosulfat die Oxydationsvorgänge im Hirngewebe steigert (Hauschild), wobei eine größere Energieausbeute möglich wäre.

Natriumthiosulfat hat in der gewählten Dosis äußerlich nicht bei allen Tieren eine volle Schutzwirkung gegenüber Cyanid. In den ersten 5 min nach der Cyanidinjektion fehlt auch ein Effekt auf den eingeschränkten Sauerstoffverbrauch. Im Gehirn hat Natriumthiosulfat einen günstigen Einfluß auf die Stoffwechselveränderungen, verhindert sie aber nicht völlig. So wird die Cytochromoxydase noch zu ca. 50% inaktiviert. Dies bedingt eine Steigerung der Glykolyse mit Abnahme des Glykogengehalts und Zunahme von Pyruvat und Lactat. Das noch signifikante Absinken des Kreatinphosphat- und ATP-Gehaltes spricht für eine immer noch bestehende Diskrepanz zwischen Energieverbrauch und -neubildung durch Restatmung und Glykolyse.

Nach Thiosulfatbehandlung halten die durch KCN ausgelösten Veränderungen im Metabolitgehalt des Gehirns kürzer an, überdauern aber immer noch die eventuell auftretenden äußeren Symptome. Der Anstieg der Cytochromoxydaseaktivität in der 5. min auf knapp 70% des Ausgangswertes reicht offenbar aus, den gesteigerten anaeroben Kohlenhydratabbau zu bremsen, denn der Lactatgehalt nimmt erheblich ab, der Glykogengehalt sinkt nicht weiter und der Glucosegehalt steigt, bedingt durch das vermehrte Angebot vom Blut her, an. Die Zunahme von Kreatinphosphat auf die Kontrollwerte und von ATP über die Norm deuten auf eine in wieder größerem Umfang mögliche Energiegewinnung hin. Es kann aber auch nach Vorbehandlung mit Thiosulfat aus dem Fehlen von äußeren Vergiftungssymptomen nicht auf eine normale Cytochromoxydaseaktivität oder einen unversehrten Hirnstoffwechsel geschlossen werden.

Die protektive Wirkung von oxydiertem Glutathion gegenüber Cyanid soll darauf beruhen, daß es mit KCN wie folgt reagieren kann (Binet, Wellers u. Dubrisay):

$$GS\text{-}SG + KCN \rightarrow GS\text{-}CN + GS\text{-}K.$$

Diese Reaktion benötigt Zeit, so daß mit einer Schutzwirkung erst nach ca. 90 sec zu rechnen ist (Binet, Wellers u. Dubrisay). Da die Cyanidkrämpfe aber bereits nach 30 sec eintreten und nach 2 min ihren Höhepunkt haben, setzt die protektive Wirkung zu spät ein, um sie noch zu verhindern. Im Gehirn läßt sich allerdings ein Effekt schon in der 1. min erkennen. Die Inaktivierung der Cytochromoxydase ist zwar, wie zu erwarten, kaum schwächer als bei den unbehandelten cyanidvergifteten Tieren, doch werden die Substratreserven in geringerem Maße angegriffen. Die geringere Abnahme des Glykogen- und Glucosegehaltes sowie der nach Verabfolgung von Glutathion allein zu beobachtende Anstieg des Glucosegehaltes könnten allerdings auch dadurch bedingt sein, daß Glutathion eine Hemmwirkung auf die Glykolyse besitzt (Schmidt). Mit der später einsetzenden Schutzwirkung läßt sich

die raschere Reaktivierung der Cytochromoxydase erklären, die dafür spricht, daß der von Binet, Wellers u. Dubrisay beschriebenen Reaktion tatsächlich eine entgiftende Funktion zukommt.

Zusammenfassung

Es wurden die zeitlichen Zusammenhänge zwischen Blockierung der Cytochromoxydase, Gehalt des Gehirns an Glykogen, Glucose, Metaboliten des anoxydativen Kohlenhydratstoffwechsels und energiereichen Phosphaten sowie den äußerlich sichtbaren Vergiftungssymptomen bei der Kaliumcyanidvergiftung und deren Beeinflussung durch Glucose, NAD, Hämiglobin, Natriumnitrit, Natriumthiosulfat und oxydiertem Glutathion untersucht.

Intravenöse Injektion von 1,75 mg/kg KCN führte bei weißen Mäusen zu einer kurzdauernden subletalen Vergiftung. Dabei fanden sich im Gehirn als Folge der 85%igen Hemmung der Cytochromoxydase die Zeichen einer Steigerung der Glykolyse (Verminderung von Glykogen und Glucose und Vermehrung von Pyruvat und Lactat). Als Ausdruck einer ungenügenden Energieproduktion war der Gehalt des Gehirns an ATP und Kreatinphosphat erniedrigt bei gleichzeitiger Zunahme des Gehalts an anorganischem Orthophosphat. Die Veränderungen im Hirnstoffwechsel zeigten innerhalb von 10—30 min eine rückläufige Tendenz. Sie überdauerten damit die äußeren Vergiftungserscheinungen beträchtlich. Bei einer mehr protrahiert verlaufenden Vergiftung durch 6 mg/kg KCN subcutan war das äußere Vergiftungsbild weniger ausgeprägt. Die Veränderungen im Metabolitgehalt des Gehirns ähnelten denen bei der akuten Vergiftung.

2 g/kg Glucose schützten nicht vor den äußeren Symptomen der akuten i.v. KCN-Vergiftung. Die Veränderungen im Metabolitgehalt des Gehirns sprechen dafür, daß die Glykolyse noch weiter gesteigert wurde bei Einsparung der hirneigenen Kohlenhydratreserven. Die Reaktivierung der Cytochromoxydase erfolgte rascher. Es wird angenommen, daß die günstige Wirkung der Glucose vor allem auf die vermehrte Bereitstellung von glykolysierbarem Substrat und weniger auf einer Entgiftung des KCN durch Cyanhydrinbildung beruht.

360 mg/kg NAD hatten bei ca. 50% der Tiere eine protektive Wirkung. NAD scheint in den gestörten Kohlenhydratstoffwechsel fördernd einzugreifen. Die Cytochromoxydaseaktivität des Gehirns wurde durch NAD nicht beeinflußt.

Natriumnitrit (60 mg/kg) und Hämiglobin (1,1 g/kg) verhinderten bei allen Tieren die äußeren Symptome der Cyanidvergiftung, Natriumthiosulfat (2,5 g/kg) in ca. zwei Drittel der Fälle. Die Inaktivierung der Cytochromoxydase, die Steigerung der Glykolyse und das Absinken des Gehalts an energiereichen Phosphaten im Gehirn konnte aber durch

keinen dieser Antagonisten völlig verhindert werden. Die Restitution wurde beschleunigt, doch überdauerten die Veränderungen im Hirnstoffwechsel immer noch beträchtlich die äußeren Vergiftungssymptome.

Glutathion (200 mg/kg) hatte äußerlich keine Schutzwirkung. Die Reaktivierung der Cytochromoxydase im Gehirn wurde beschleunigt.

Anmerkung. Ich danke Frl. G. Eichhorn, Frau I. Jung, Frl. I. Tschöpa und Frau E. Wittchow für ihre Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

Literatur

Albaum, H. G., J. Tepperman, and O. Bodansky: (1) The in vivo inactivation by cyanide of brain cytochrome oxidase and its effect on glycolysis and on the high energy phosphorous compounds in brain. J. biol. Chem. **164**, 45 (1946).

— — — (2) A spectrophotometric study of the competition of methemoglobin and cytochrome oxidase for cyanide in vitro. J. biol. Chem. **163**, 641 (1946).

Bénard, H., M. Tissier, G. Bareillier, L. Dermer et H. Pequignot: Hyperglycémie au cours de la perfusion asphyxique du foie. C. R. Soc. Biol. (Paris) **129**, 746 (1938).

Binet, L., G. Wellers et J. Dubrisay: Contribution à l'étude de l'intoxication cyanhydrique, valeur antidote du tétrathionate de sodium. C. R. Acad. Sci. (Paris) **226**, 1941 (1948).

Bodansky, O.: Methemoglobinemia and methemoglobin-producing compounds. Pharmcol. Rev. **3**, 144 (1951).

Bücher, Th.: (1) Probleme des Energietransportes innerhalb lebender Zellen. Advanc. Enzymol. **14**, 1 (1953).

— (2) Unveröffentlicht.

—, u. H.-J. Hohorst: Dihydroxyaceton-phosphat, D-Fructose-1,6-diphosphat und D-Glycerinaldehyd-3-phosphat. In: Bergmeyer, H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie 1962.

—, u. Schuart: Unveröffentlicht.

Colowick, S. P., N. O. Kaplan, and M. M. Ciotti: The reaction of pyridine nucleotide with cyanide and its analytical use. J. biol. Chem. **191**, 447 (1951).

Coper, H., H. Herken u. W. Koransky: Die freien Nucleotide des Gehirns im generalisierten Krampfanfall. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **234**, 455 (1958).

Darling, R. C., and F. J. W. Roughton: Effect of methemoglobin on equilibrium between oxygen and hemoglobin. Amer. J. Physiol. **137**, 56 (1942).

Döring, H. J., u. E. Gerlach: Säurelösliche Phosphor-Verbindungen des Gehirns unter dem Einfluß von Anoxie, Ischämie und narkotischen Stoffen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **232**, 271 (1957).

— A. Knopp u. Th. Martin: Papierchromatographische Studien über das Verhalten der Adenin-, Guanin- und Uridin-Nucleotide sowie anderer säurelöslicher Phosphor-Verbindungen im Großhirn der Ratte bei Asphyxie und postasphyktischer Erholung. Pflügers Arch. ges. Physiol. **269**, 375 (1959).

Estler, C.-J.: (1) Veränderungen des Adenosinpolyphosphat-, Kreatinphosphat-, Glykogen- und Milchsäuregehalts sowie der Coenzym A-Aktivität des Gehirns im Verlauf der nicht letalen Kaliumcyanidvergiftung. Klin. Wschr. **39**, 149 (1961).

— (2) Über Veränderungen des Hirnstoffwechsels nach akuter Kohlenmonoxydvergiftung und über den Einfluß von Natriumsuccinat auf die Kohlenmonoxydvergiftung. Arch. int. Pharmacodyn. (Im Druck.)

Estler, C.-J., u. H. P. T. Ammon: Der Gehalt des Gehirns an energiereichen Phosphaten und Zwischenprodukten der Glykolyse bei akuter Hyperglykämie. (In Vorbereitung.)

—, u. F. Heim: Der Einfluß des Kaliumcyanid auf den Coenzym A- und Milchsäuregehalt in Gehirn, Leber, Herz und Nieren und auf einige Phosphorsäureester des Gehirns. Med. exp. (Basel) **2**, 244 (1960).

Forst, A. W.: Zur Entgiftung der Blausäure. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **128**, 1 (1928).

Gerlach, E., H. J. Döring u. A. Fleckenstein: Papierchromatographische Studien über die Adenin- und Guanin-Nucleotide sowie andere säurelösliche Phosphor-Verbindungen des Gehirns bei Narkose, Ischämie und in Abhängigkeit von der Technik der Gewebsentnahme. Pflügers Arch. ges. Physiol. **266**, 266 (1958).

Gurdjian, E. S., J. E. Webster, and W. E. Stone: Cerebral constituents in relation to blood gases. Amer. J. Physiol. **156**, 149 (1949).

Hanzlik, P. J., and A. P. Richardson: Cyanide antidotes. J. Amer. med. Ass. **102**, 1740 (1934).

Hauschild, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie. Leipzig: G. Thieme 1958.

Hess, B.: Enzyme im Blutplasma. Stuttgart: G. Thieme 1962.

Heubner, W.: Note regarding the formation of methemoglobin. J. Pharmacol. exp. Ther. **30**, 273 (1927).

Heymans, C., et R. Soenen: Le glucose n'empêche pas l'intoxication par les composés cyanogénes. C. R. Soc. Biol. (Paris) **96**, 202 (1927).

Hug, E.: (1) L'intoxication par l'acide cyanhydrique. Les substances méthémoglobinisantes comme antidotes de l'intoxication cyanhydrique. C. R. Soc. Biol. (Paris) **112**, 511 (1933).

— (2) Action méthémoglobinisante in vivo du nitrite de sodium et du bleu de méthylène. C. R. Soc. Biol. (Paris) **114**, 947 (1933).

—, y A. D. Marenzi: La fijación del ácido cianhídrico por los hematíes que contienen metahemoglobina. Rev. Soc. argent. biol. **9**, 83 (1933).

Huggett, A. St. G., and D. A. Nixon: Use of glucose oxidase, peroxidase, and of o-dianisdine in determination of blood and urinary glucose. Lancet **273**, 368 (1957 II).

Ikeziri, M.: Studies on the metabolism of bone marrow. III. Influence of potassium cyanide on oxygen consumption and glucose metabolism of marrow tissue. Kumamoto med. J. **8**, 228 (1955).

Jedeikin, L. A., and S. Weinhouse: Metabolism of neoplastic tissue. VI. Assay of oxidized and reduced diphosphopyridine nucleotide in normal and neoplastic tissues. J. biol. Chem. **213**, 271 (1955).

Kemp, A., and A. J. M. Kits van Heijningen: A colorimetric micro-method for the determination of glycogen in tissues. Biochem. J. **56**, 646 (1954).

Koga, H.: Studies on the function of isolated perfused mammalian lung. V. Influence of cyanide on the glycolysis and the respiration of perfused rabbit lung. Kumamoto med. J. **11**, 9 (1958).

Lamprecht, W., u. P. Stein: Creatinphosphat. In: Bergmeyer, H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie 1962.

Lipmann, F.: Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy. Advanc. Enzymol. **1**, 99 (1941).

Lowry, O. H., J. V. Passoneau, F. X. Hasselberger, and D. W. Schulz: Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. J. biol. Chem. **239**, 18 (1964).

Magos, L., and M. Szirtes: Determination of methemoglobin, verdoglobin and hemoglobin by pulfrich photometer. Plasma (Milano) **2**, 551 (1954).

Meier, R.: Studien über Methamoglobinbildung. VII. Mitteilung: Nitrit. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **110**, 241 (1925).

Meyerhof, O., and A. Kaplan: The mechanism of the cyanid inhibition of fermentation. Arch. Biochem. **37**, 375 (1952).

Möller, K.: Pharmakologie als theoretische Grundlage einer rationellen Pharmakotherapie, 4. Aufl. Basel u. Stuttgart: B. Schwabe 1961.

Olsen, N., and J. R. Klein: Effect of cyanide on the concentration of lactate and phosphates in brain. J. biol. Chem. **167**, 739 (1947).

Opitz, E.: Energieumsatz des Gehirns in situ unter aeroben und anaeroben Bedingungen. In: Chemie und Stoffwechsel des Nervengewebes. 3. Coll. Ges. Physiol. Chem. in Mosbach/Baden. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1952.

Paulet, G.: (1) Glutathion sanguin et intoxication cyanhydrique aigue. C. R. Acad. Sci. (Paris) **240**, 1665 (1955).

— (2) L'intoxication cyanhydrique et son traitement. Paris: Masson & Cie. 1960.

Quadbeck, G., u. H. Helmchen: Die Blut-Hirnschranke. Dtsch. med. Wschr. **82**, 1377 (1957).

—, u. W. Schmitt: Zum Wirkungsmechanismus neuroplegischer Substanzen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **237**, 94 (1959).

Randle, P. J., and G. H. Smith: Regulation of the uptake of glucose by the isolated rat diaphragm. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **25**, 442 (1957).

Renescu, N., et I. Potop: Glutathionémie dans l'intoxication chronique par les cyanures, chez le chien. C. R. Soc. Biol. (Paris) **125**, 201 (1937).

Schankies, F.: Beitrag zur experimentellen Therapie der Blausäurevergiftung. Inaug.-Diss., Königsberg 1918.

Schmidt, C. G.: Gehirn und Nerven. In: Flaschenträger, B., u. E. Lehnartz: Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch für Ärzte, Biologen und Chemiker. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1956.

Scholz, R., H. Schmitz, Th. Bücher u. O. Lampen: Über die Wirkung von Nystatin auf Bäckerhefe. Biochem. Z. **331**, 71 (1959).

Smith, F. G., and E. Stotz: A colorimetric method for the determination of cytochrome oxidase. J. biol. Chem. **179**, 891 (1949).

Stern, L., et E. Lokchina: Effect de l'empoisonnement par l'oxyde de carbone (gaz d'éclairage), l'hydrogène sulfuré et l'acide cyanhydrique, sur le fonctionnement de la barrière hématoencephalique. C. R. Soc. Biol. (Paris) **97**, 647 (1927).

Stone, W. E.: The effect of anaesthetics and of convulsants on the lactic acid content of the brain. Biochem. J. **32**, 1909 (1938).

Svedberg, S.: Cyanide poisoning and methemoglobinaemia. Acta pharmacol. (Kbh.) **3**, 335 (1947).

Tepperman, J., O. Bodansky, and B. J. Jandorf: Effect of paraaminopropiophenone-induced methemoglobinemia on oxygenation of working muscle in human subjects. Amer. J. Physiol. **146**, 702 (1946).

Thorn, W., W. Isselhard u. B. Müldener: Glykogen-, Glucose- und Milchsäuregehalt in Warmblüterorganen bei unterschiedlicher Versuchsanordnung und anoxischer Belastung mit Hilfe optischer Fermenttests ermittelt. Biochem. Z. **331**, 545 (1959).

— G. Pfleiderer, R. A. Frowein u. I. Ross: Stoffwechselvorgänge im Gehirn bei akuter Anoxie, akuter Ischämie und in der Erholung. Pflügers Arch. ges. Physiol. **261**, 334 (1955).

Thorn, W., H. Scholl, G. Pfleiderer u. B. Mueldener: Stoffwechselvorgänge im Gehirn bei normaler und herabgesetzter Körpertemperatur unter ischämischer und anoxischer Belastung. J. Neurochem. **2**, 150 (1958).

Töppich, G.: Zur Pathologie der subakuten Blausäure-Inhalationsvergiftung. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. **12**, 10 (1943).

Turner, B. B., and H. R. Hulpieu: A study of the antidotal action of sodium thiosulphate and dihydroxyacetone in cyanide poisoning, and the alleged antidotal action of glucose. J. Pharmacol. exp. Ther. **48**, 448 (1933).

Violle, H.: De la neutralisation «in vivo». de l'acide cyanhydrique par le glucose. Bull. Acad. Méd. (Paris) **95**, 644 (1926)

Voegtlin, C., J. M. Johnson, and H. A. Dyer: Biological significance of cystine and glutathione. I. On the mechanism of the cyanide action. J. Pharmacol. exp. Ther. **27**, 467 (1926).

Weber, D., K. D. Friedberg u. L. Lendle: Beurteilung therapeutischer Maßnahmen bei der Blausäurevergiftung unter konstanter Cyanid-Infusion. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **244**, 1 (1962).

Wendel, W. B.: (1) Methylene blue and cyanide poisoning. J. Amer. med. Ass. **100**, 1054 (1933).

— (2) The mechanism of the action of methylene blue and sodium nitrite in cyanide poisoning. J. biol. Chem. **100**, C (1933).

Wirth, W.: Experimentelle Studien zur Behandlung der Vergiftung durch Blausäure-Einatmung. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **179**, 558 (1935).

Priv. Doz. Dr. C.-J. Estler,
Pharmakologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg, 852 Erlangen, Universitätsstr. 22

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak. 252, 305—313 (1966)

Der Einfluß von Kobaltgluconat und des Dikobaltsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure (Co_2EDTA) auf den Hirnstoffwechsel normaler und cyanidvergifteter Mäuse*

C.-J. Estler

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. F. Heim)

Eingegangen am 24. Juli 1965

In einer früheren Mitteilung (Estler) wurde über den Stoffwechsel des Gehirns weißer Mäuse unter der Einwirkung einer nicht letalen Kaliumcyanidvergiftung und deren Beeinflussung durch Hämiglobin, Natriumnitrit, Natriumthiosulfat, Glutathion, Glucose und Nicotinamid-adenindinucleotid berichtet. In der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluß von Kobaltverbindungen (Kobalt-gluconat und Co_2-EDTA = Dikobaltsalz der Äthylendiamintetraessigsäure) auf die bei der Kaliumcyanidvergiftung auftretenden Änderungen im Metabolitgehalt des Gehirns untersucht werden. Im einzelnen bestimmten wir den Gehalt des Gehirns an Glykogen, Glucose, Pyruvat, Lactat, Adenosintriphosphat, Adenosindiphosphat, Adenosinmonophosphat, Kreatinphosphat, anorganischem Orthophosphat, die Cytochromoxydaseaktivität des Gehirns, den Blutzuckerspiegel sowie Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe des Gesamttieres.

Da Blausäure mit Schwermetallen komplexe Verbindungen bildet, lag es nahe, Schwermetalle zur Entgiftung der Blausäure heranzuziehen. Das in diesem Zusammenhang zuerst untersuchte Kobaltnitrat war in den zur Erzielung eines Schutzeffektes benötigten Dosen zu toxisch (Antal; Meurice). Eine Bedeutung konnten die Kobaltverbindungen erst erlangen, nachdem Mushett, Kelley, Boxer u. Rickards, Delga, Mizoule, Veverka u. Bon, Tomoda (1, 2) und später auch Paulet u. Olivier, Grützmacher u. Friedberg sowie Friedberg, Grützmacher u. Lendle eine protektive und curative Wirkung von Hydroxocobalamin gegenüber Blausäure feststellen konnten. Braekkan, Njaa u. Utne schlossen aus der von ihnen beobachteten Abnahme des Cobalamingehalts der Leber cyanidvergifteter Ratten, daß Hydroxocobalamin an

* Folgende Abkürzungen werden in dieser Arbeit verwendet: ADP: Adenosindiphosphat, AMP: Adenosinmonophosphat, ATP: Adenosintriphosphat, Cyt.Ox.: Cytochromoxydase, KrP: Kreatinphosphat, P: anorganisches Orthophosphat.

der Entgiftung des Cyanids beteiligt ist. In der Folge wurden vor allem von Paulet u. Mitarb., Mercker und Bastian (1, 2), Weber, Friedberg u. Lendle, Grützmacher u. Friedberg u. Evans weitere organische Kobaltverbindungen untersucht, die Kobalt nur schwer abspalten und deshalb nur eine geringe Toxicität besitzen. Durch Cyan-Ionen kann aus diesen Verbindungen Kobalt leicht herausgerissen werden, da die Komplexkonstante von Kobalt-Cyanid-Komplexen größer ist als die anderer Kobaltkomplexe (Bartelheimer, Friedberg u. Lendle). Als Reaktionsprodukte entstehen Kaliumkobalticyanid und andere Kobalt-Cyanid-Komplexe, die praktisch ungiftig sind und schnell ausgeschieden werden (Bartelheimer, Friedberg u. Lendle). Es besteht somit ein reziproker Antagonismus mit wechselseitiger Entgiftung zwischen Cyanid und Kobalt (Paulet, Chary u. Boquet; Weber, Friedberg u. Lendle).

Methodik

Eine akute, subletale Cyanidvergiftung riefen wir, wie in einer früheren Mitteilung (Estler) beschrieben, durch i.v. Injektion von 1,75 mg/kg KCN hervor. Co_2-EDTA wurde 5 min vor der KCN-Injektion i.p. in einer Dosierung von 5 und 10 mg/kg gegeben, Kobaltgluconat 1 min vor der KCN-Injektion i.v. in einer Menge von 5 mg/kg. Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs und der CO_2-Abgabe, die Tötung der Tiere und die Metabolitbestimmungen im Gehirn wurden nach den früher (Estler) angegebenen Methoden durchgeführt. Die Zahl der Einzelwerte, aus denen die angegebenen Mittelwerte errechnet wurden, betrug 4—21.

Versuchsergebnisse

Kobaltgluconat und Co_2-EDTA wurden von den Mäusen in der verwendeten Dosierung von 5 mg/kg äußerlich symptomfrei vertragen. Beide Verbindungen führten im Gehirn zu einer Zunahme des Glucose- bei gleichzeitiger Abnahme des Milchsäuregehalts, Co_2-EDTA daneben auch zu einer Verminderung des Gehaltes an Kreatinphosphat und AMP und einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels. Co_2-EDTA senkte in einer Dosierung von 10 mg/kg den Sauerstoffverbrauch und die CO_2-Abgabe (siehe Tabelle).

Vor der Kaliumcyanidinjektion verabreicht, konnten 5 mg/kg Kobaltgluconat sämtliche äußere Symptome der Cyanidvergiftung bei allen Tieren verhindern. Die Schutzwirkung von 5 mg/kg Co_2-EDTA war weniger sicher und ließ sich auch durch Verdoppelung der Dosis nicht verbessern. Etwa 30% der Tiere zeigten, wenn auch in abgeschwächter Form und kürzer andauernd, die Zeichen der Cyanidvergiftung. Es kam zu Störungen der Atemtätigkeit und gelegentlich auch zu Krämpfen. Der Sauerstoffverbrauch und die CO_2-Abgabe war bei den Tieren, die 5 oder 10 mg/kg Co_2-EDTA + Kaliumcyanid erhalten hatten, stärker herabgesetzt als bei den Tieren, denen nur KCN injiziert worden war. Da die Schutzwirkung durch die Erhöhung der Dosis

Tabelle. *Der Einfluß von Kobaltgluconat und Kobalt-EDTA auf den Metabolitgehalt des Gehirns und den Blutzucker*
Angegeben sind die Mittelwerte und ihre Streuungen, in Klammern die Zahl der Einzelversuche

Zeit in min	Kontrollen	Co-Gluconat (5 mg/kg i.v.)		Kobalt-EDTA (5 mg/kg i.p.)	
		2	11	6	15
Glykogen in µMol/g	3.24 ± 0.10 (16)	3.38 ± 0.12 (10)	3,31 ± 0,13 (9)	3,14 ± 0,18 (10)	3.42 ± 0,14 (9)
Glucose in µMol/g	1.68 ± 0,09 (17)	2,15 ± 0,11 (10)	2,40 ± 0,13* (9)	2,53 ± 0,15* (10)	2,56 ± 0,11* (10)
Pyruvat in µMol/g	0,200 ± 0,004 (10)	0,213 ± 0,004 (10)	0,206 ± 0,005 (9)	0,183 ± 0,004* (10)	0,205 ± 0,005 (10)
Lactat in µMol/g	1,56 ± 0.12 (18)	1,25 ± 0,11 (16)	1,11 ± 0,10* (13)	1,02 ± 0,14* (14)	1,02 ± 0,11* (13)
ATP in µMol/g	2,86 ± 0,14 (12)	2,95 ± 0,11 (11)	2,68 ± 0,10 (11)	2,80 ± 0,07 (12)	2,60 ± 0,11 (12)
ADP in µMol/g	0,86 ± 0,04 (12)	0,71 ± 0,11 (12)	0,74 ± 0,08 (12)	0,86 ± 0,07 (11)	0,93 ± 0,06 (11)
AMP in µMol/g	0.85 ± 0,04 (12)	0,87 ± 0,07 (12)	0,87 ± 0,02 (12)	0,80 ± 0,05 (11)	0.75 ± 0,02* (11)
Kreatinphosphat in µMol/g	3,23 ± 0,09 (11)	3,23 ± 0,11 (9)	3,07 ± 0,05 (9)	2,71 ± 0,08* (12)	2,81 ± 0,11* (12)
anorg. Phosphat in µMol/g	2,83 ± 0,14 (10)	2,94 ± 0.11 (8)	2,88 ± 0,09 (9)	2,90 ± 0,19 (11)	2,77 ± 0.13 (11)
Blutzucker in mg-%	140 ± 9 (12)	123 ± 6 (14)	162 ± 9 (12)	159 ± 5 (15)	179 ± 6* (14)

* Vom Kontrollwert signifikant verschieden. $P \leqq 0{,}05$.

offensichtlich nicht verstärkt wurde, und da Co_2-EDTA selbst nicht ungiftig ist [Bartelheimer(1); Tauberger u. Klimmer], wurde für die weiteren Versuche die niedrigere Dosis von 5 mg/kg gewählt.

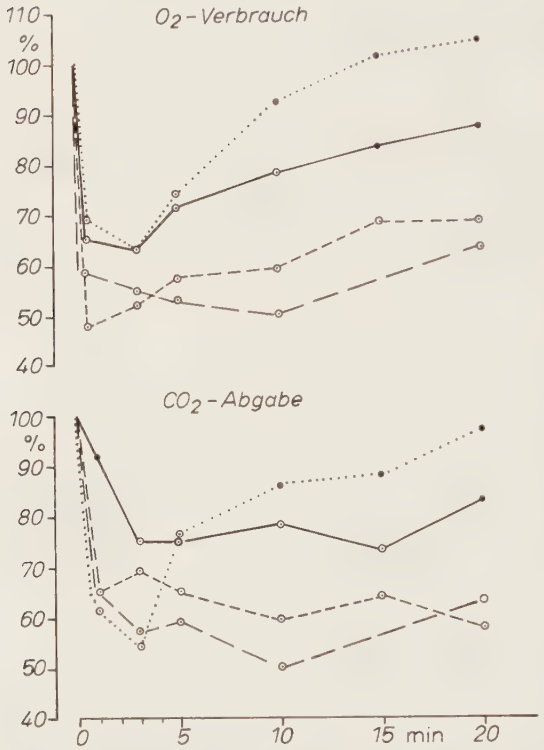

Abb. 1. Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe weißer Mäuse nach Verabreichung von 1,75 mg/kg KCN i.v. allein (———) und von KCN nach Vorbehandlung mit 5 mg/kg Kobaltgluconat (· · · ·), 5 mg/kg Co_2-EDTA (- - - -) oder 10 mg/kg Co_2-EDTA (— —). 0: Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden. $P \leqq 0{,}05$

Die Veränderungen im Gaswechsel der Tiere und im Metabolitgehalt des Gehirns sind in den Abb. 1 und 2 dargestellt.

Diskussion

Zur völligen Entgiftung des Cyanids sind verhältnismäßig hohe Kobaltdosen notwendig, denn nach Bartelheimer, Friedberg u. Lendle muß das Gewichtsverhältnis von Co^{++}- zu CN^--Ionen in vivo mindestens 2,5:1 betragen. Da Kobaltgluconat etwa 13% Kobalt enthält, Co_2-EDTA etwa 30%, wobei beim Co_2-EDTA allerdings nur das periphere Kobalt-Ion frei dissoziiert [Bartelheimer(2); Paulet(1)], betrug das Verhältnis Co^{++} zu CN^- in unseren Versuchen annähernd 1:1. Wir haben diese Dosierung gewählt, weil die entsprechende Menge Kobaltgluconat genügte, die äußeren Erscheinungen der Cyan-Vergiftung völlig zu unterdrücken. 5 und selbst 10 mg/kg Co_2-EDTA waren dagegen noch nicht ausreichend. Auch von Evans sowie Grützmacher u. Friedberg wurde auf die relativ schwache Schutzwirkung von Co_2-EDTA bei Mäusen hingewiesen.

Es ergab sich, daß die Senkung von Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abatmung, die bei der Cyanidvergiftung auftritt, weder durch 5 mg/kg Kobaltgluconat noch durch 5 bzw. 10 mg/kg Co_2-EDTA gebessert werden konnten. Wahrscheinlich überlagert sich hier die Eigenwirkung des

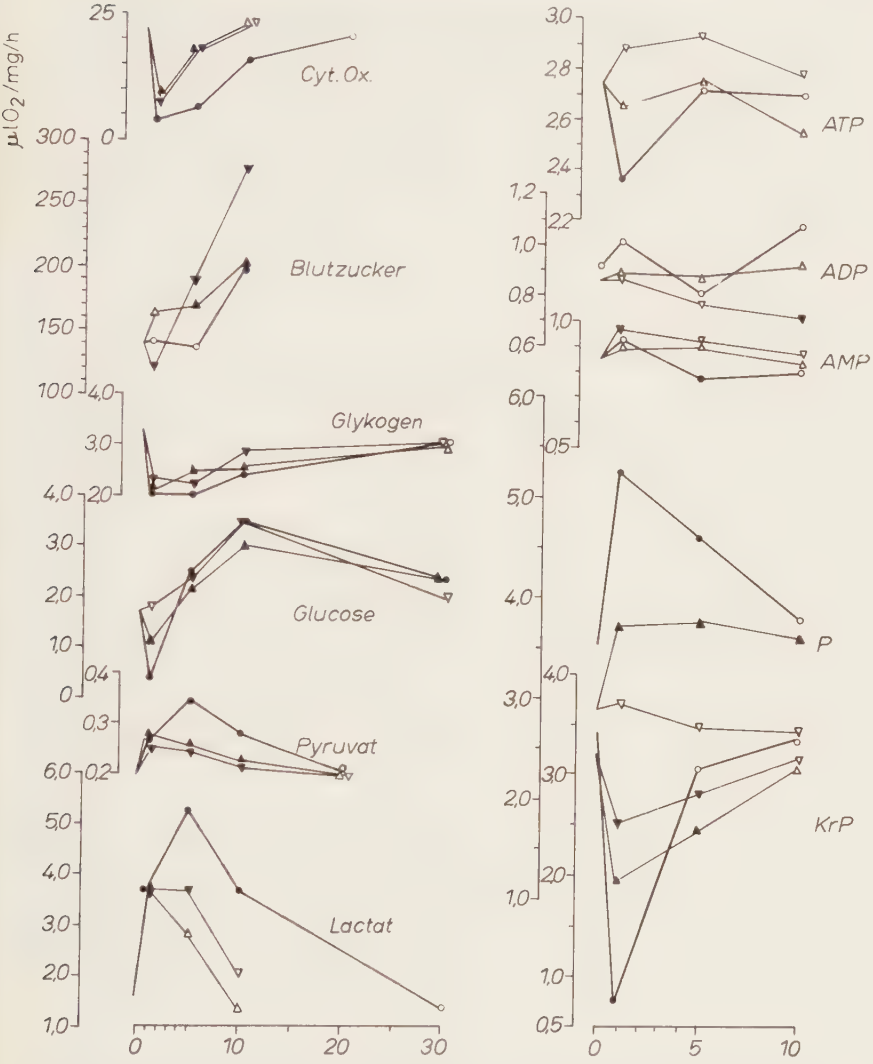

Abb. 2. Der Einfluß von 1,75 mg/kg KCN i.v. allein (○———○) und nach Vorbehandlung mit 5 mg/kg Kobaltgluconat (△———△) oder 5 mg/kg Co_2-EDTA (▽———▽) auf den Metabolitgehalt des Gehirns und den Blutzucker. Mengenangaben in µMol/g Frischgewicht, bei Glykogen in µMol Glucoseäquivalenten/g Frischgewicht, bei Blutzucker in mg/100 ml. ● ▲ ▼ Wert vom Kontrollwert signifikant verschieden. $P \leqq 0{,}05$

Kobalt mit der Cyanidwirkung, denn 10 mg/kg Co_2-EDTA führten ebenfalls zu einer erheblichen Einschränkung des Gaswechsels, die vielleicht darauf beruht, daß nach Dingle, Heath, Webb u. Daniel Kobalt zu einer Verminderung der Gewebsatmung führt.

Die noch erhebliche Inaktivierung der Cytochromoxydase des Gehirns beweist, daß, obwohl nach Vorbehandlung mit Kobaltgluconat äußere Vergiftungssymptome fehlten, die Entgiftung nicht vollständig war. Infolgedessen war auch die Glykolyse immer noch stark gesteigert, wie die Verminderung des Glykogengehalts und die Vermehrung von Milchsäure und Brenztraubensäure zeigten. Im Gegensatz zur unbehandelten Cyanidvergiftung reichte aber offenbar die durch die restliche Atmung und Glykolyse gebildete Energie aus, den Abfall des Gehalts an Kreatinphosphat geringer und den ATP-Gehalt sogar auf normalem Niveau zu halten.

Durch Kobaltgluconat und Co_2-EDTA wurde die Restitution der cyanidbedingten Stoffwechselveränderungen beschleunigt. Da Milchsäure und Brenztraubensäure von der ersten Minute ab nicht weiter zunahmen und der Glykogengehalt nicht weiter abnahm, kann man annehmen, daß die Glykolyse um diese Zeit wieder eingeschränkt werden konnte.

Der Kreatinphosphatgehalt stieg in der Erholungsphase langsamer an, wenn die Tiere mit Kobalt vorbehandelt wurden. Möglicherweise überlagert sich hier wieder eine Eigenwirkung des Kobalts mit der Cyanidwirkung, denn wenn die Kobaltverbindungen allein gegeben wurden, fanden sich ebenfalls Veränderungen im Metabolitgehalt des Gehirns. Co_2-EDTA senkte den Kreatinphosphatgehalt und Co_2-EDTA und Kobaltgluconat führten zur Zunahme des Glucosegehalts und zur Verminderung der Milchsäure. Es liegt nahe, diese Veränderungen, wie schon die Senkung des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Abgabe, auf eine Wirkung des Kobaltanteils der Substanzen zurückzuführen, denn Kobalt gehört zu den thiolopriven Substanzen (Bacq), die durch Reaktion mit aktiven Sulfhydrylgruppen in Fermenten und biologisch wichtigen Stoffen Funktionsänderungen verursachen können. Da SH-Gruppen-haltige Fermente auch im Kohlenhydratstoffwechsel eine Rolle spielen, könnte eine Hemmung dieser Fermente die von uns beobachteten Änderungen im Gehalt des Gehirns an Glucose und Milchsäure, die auf eine Einschränkung des glykolytischen Kohlenhydratabbaus schließen lassen, erklären.

Nach Weissbecker bildet Kobalt nicht nur mit freien Sulfhydrylgruppen, sondern auch mit koordinativ 4wertigem Stickstoff im Organismus stabile Komplexe. Dadurch wird die Wasserstoffübertragung in Redox-Systemen aufgehoben und ein Zustand der „Aredoxie" hervorgerufen, bei dem wichtige Teile der inneren Atmung und des Intermediärstoffwechsels blockiert sind und der daher einer Hypoxie ähnelt. Damit erklärt sich die von uns gefundene Senkung des Sauerstoffverbrauchs und der CO_2-Abgabe, die auf eine Verminderung des oxydativen Stoffwechsels hinweisen. Die Verminderung des Phosphokreatingehalts

ergibt sich dann als Folge der Störungen im glykolytischen und oxydativen Stoffwechsel mit einer verminderten Gewinnung von chemischer Energie.

Die Tatsache, daß organische Kobaltverbindungen in einer Dosierung, die noch unter den zur Therapie der Cyan-Vergiftung empfohlenen Dosen liegt [Paulet (2)], zu einer deutlichen Einschränkung der Atmung, des Intermediärstoffwechsels und der Energiegewinnung führen, könnte vielleicht auch praktische Bedeutung erlangen, wenn Kobaltverbindungen in stärkerem Maße zur Behandlung der Cyanvergiftungen herangezogen werden, wobei die Gefahr von Kobaltüberdosierungen gegeben ist.

Zusammenfassung

An weißen Mäusen wurde die cyanidantagonistische Wirkung von Kobaltgluconat und Co_2-EDTA untersucht. 5 mg/kg Kobaltgluconat verhinderten sicher die äußeren Zeichen einer durch 1,75 mg/kg KCN i.v. hervorgerufenen Vergiftung. Die Schutzwirkung von 5 mg/kg Co_2-EDTA war unsicherer. Durch beide Verbindungen wurde die durch KCN verursachte Steigerung der Glykolyse und die Einschränkung der Energieproduktion im Gehirn abgeschwächt, aber nicht völlig aufgehoben. Die Restitution des veränderten Metabolitgehalts wurde beschleunigt. Beide Kobaltverbindungen riefen keine äußerlich erkennbaren Vergiftungssymptome hervor, führten aber zu Änderungen im Metabolitgehalt des Gehirns, die für eine Einschränkung des Kohlenhydrat- und Energiestoffwechsels sprechen.

Frl. G. Eichhorn und Frau I. Jung danke ich für ihre Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche. Der Firma Laboratoires La Roche Navarron, Levallois (Seine), Frankreich, danke ich für die Überlassung von Co_2-EDTA, der Firma Montavit GmbH, Absam, Tirol, Österreich, für die Überlassung von Kobaltgluconat und der Gesellschaft für Lindes Eismaschinen, Nürnberg, für die kostenlose Bereitstellung der für die Versuche benötigten flüssigen Luft.

Literatur

Antal, F.: Experimentelle Untersuchungen zur Therapie der Cyanvergiftungen. Physiologische Studien aus Instituten der Universität Budapest. Wiesbaden 1895.

Bacq, Z. M.: Substances thioloprives. Experientia (Basel) **2**, 349, 385 (1946).

Bartelheimer, E. W.: (1) Analyse der akuten Kobaltvergiftung im Tierversuch. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **243**, 237 (1962).

— (2) Unterschiede der toxischen und cyanidantagonistischen Wirksamkeit von Kobaltchelat-Verbindungen (Co-Histidin und Co_2-EDTA). Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **243**, 254 (1962).

— K. D. Friedberg u. L. Lendle: Chemische Reaktionsmöglichkeiten von Kobaltverbindungen als Voraussetzung ihrer Toxizität und Antidotwirksamkeit gegen Blausäure. Arch. int. Pharmacodyn. **139**, 99 (1962).

Braekkan, O. R., L. R. Njaa, and F. Utne: The effect of cyanide on liver reserves of vitamin B_{12}. Acta pharmacol. (Kbh.) **13**, 228 (1957).

Delga, J., J. Mizoule, B. Veverka et R. Bon: Recherches sur le traitement de l'intoxication cyanhydrique par l'hydroxocobalamine. Ann. pharm. franç. **19**, 740 (1961).

Dingle, J. T., J. C. Heath, M. Webb, and M. Daniel: The biological action of cobalt and other metals. II. The mechanism of the respiratory inhibition produced by cobalt in mammalian tissues. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **65**, 34 (1962).

Estler, C.-J.: Stoffwechselveränderungen des Gehirns im Verlauf der nicht letalen Kaliumcyanidvergiftung und ihre Beeinflussung durch Cyanidantagonisten. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **251**, 413 (1965).

Evans, C. L.: Cobalt compounds as antidotes for hydrocyanic acid. Brit. J. Pharmacol. **23**, 455 (1964).

Friedberg, K. D., J. Grützmacher u. L. Lendle: Aquocobalamin (Vitamin B 12a) als spezifisches Blausäureantidot. Arch. int. Pharmacodyn. **154**, 327 (1965).

Grützmacher, J., u. K. D. Friedberg: Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsbedingungen von Kobalt-EDTA, Aquocobalamin und Kobalt-Desferrioxamin als Blausäureantidote. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **250**, 252 (1965).

Mercker, H., u. G. Bastian: (1) Stoffwechsel- und Kreislaufwirkungen bei der Kobalttherapie der Cyanidvergiftung. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **236**, 194 (1959).

— — (2) Kobaltverbindungen zur Entgiftung von Blausäure. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **236**, 449 (1959).

Meurice, J.: Intoxication et désintoxication de differents nitriles par l'hyposulfite de soude et les sels métalliques. Arch. int. Pharmacodyn. **7**, 11 (1900).

Mushett, C. W., K. L. Kelley, G. E. Boxer, and J. C. Rickards: Antidotal efficacy of vitamin $B_{12\,a}$ (hydroxocobalamin) in experimental cyanide poisoning. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **81**, 234 (1952).

Paulet, G.: (1) Les composés organiques du cobalt dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique. Presse méd. **66**, 1435 (1958).

— (2) Intoxication cyanhydrique et chélates de cobalt. J. Physiol. (Paris) **50**, 438 (1958).

— (3) Les chélates de cobalt dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique. Path. et Biol. **8**, 255 (1960).

— (4) L'intoxication cyanhydrique et son traitement. Paris 1960.

— (5) Nouvelles perspectives dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique. Arch. Mal. prof. **22**, 120 (1961).

— R. Chary et P. Bocquet: De l'antidotisme réciproque entre le cobalt et le groupement CN. C. R. Soc. Biol. (Paris) **153**, 1800 (1959).

— — et M. Fouilhoux: Valeur comparée du nitrite de sodium et des chélates de cobalt dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique chez l'animal (chien-lapin) non anethésié. Arch. int. Pharmacodyn. **127**, 104 (1960).

—, et M. Olivier: Au sujet de la valeur thérapeutique de l'hydroxocobalamine dans l'intoxication cyanhydrique. Ann. pharm. franç. **21**, 133 (1963).

Tauberger, G., u. O. R. Klimmer: Tierexperimentelle Untersuchungen einiger Kobaltverbindungen nach intravenöser Injektion. Arch. int. Pharmacodyn. **143**, 219 (1963).

Tomoda, I.: (1) Influence of vitamin B_{12a} on the activity of perfused toad heart poisoned by cyanide. Kumamoto Med. J. **8**, 23 (1955).

— (2) Influence of vitamin B_{12a} on the activity of a perfused toad heart poisoned by cyanide. Kumamoto Med. J. **9**, 123 (1956).

Weber, D., K. D. Friedberg u. L. Lendle: Beurteilung therapeutischer Maßnahmen bei der Blausäurevergiftung unter konstanter Cyanid-Infusion. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **244**, 1 (1962).

Weissbecker, L.: Kobalt als Spurenelement und Pharmakon. Med. Wschr. Beiheft 9 (1950).

Priv.-Doz. Dr. C.-J. Estler,
Pharmakologisches Institut der Universität,
852 Erlangen, Universitätsstraße 22